

# Etude de l'efficacité du perydroxan contre *Penicillium italicum* et *P. digitatum* responsables de la pourriture des fruits d'agrumes en conservation (Maroc)

Khaled Attrassi

Laboratoire Science de la vie et de la terre, CRMEF (Centre Régional des Métiers de l'Éducation et de la Formation), 245, Kénitra, Maroc. attrassi2@yahoo.fr

**Résumé**— *Penicillium italicum* et *P. digitatum* sont des principales maladies fongiques capables de développer des résistances à une grande variété de composés fongicides de synthèse.

Ce projet de recherche s'intéresse à l'étude de l'activité antifongique d'un nouveau produit dit Perydoxan contre deux champignons phytopathogènes *Penicillium italicum* et *P. digitatum* attaquant aux fruits d'agrumes en conservation de la région Gharb (Maroc). Différentes concentrations de Perydoxan ont été testées pour leurs effets inhibiteurs de la croissance mycélienne et de la germination des spores *in vitro* et *in vivo* de *P. italicum*, et *P. digitatum*. De plus la croissance mycélienne de *P. italicum* a été inhibée à 100% à la dose de 2,5%. Alors que la germination des spores de *P. digitatum* a été inhibée à 100% à la dose de 1,5% et pour une durée de contact de 25min. Cette étude montre que le Perydoxan présente une efficacité importante sur la croissance mycélienne et la germination des spores des champignons *P. italicum* et *P. digitatum*.

**Mots-clés**: *Penicillium italicum* ; *P. digitatum* ; Perydoxan ; Activité antifongique.

## Study of the efficiency of the perydroxan against *Penicillium italicum* and *P. digitatum* responsible for the decay of fruits of citrus fruits in preservation (Morocco)

**Abstract**— *Penicillium italicum* and *P. digitatum* are the main fungal diseases capable of developing resistance to a wide variety of compounds fungicides of synthesis.

This research project is interested in the study of the antifungal activity of a new product said Perydoxan against two phytopathogenic fungi *Penicillium italicum* and *P. digitatum* attacking the fruits of Citrus fruit in conservation of the Gharb region (Morocco). Different concentrations of Perydoxan have been tested for their inhibitory effects of the mycelial growth and spore germination *in vitro* and *in vivo* of *P. italicum*, and *P. digitatum*. In addition the mycelial growth of *P. italicum* was inhibited 100% at the dose of 2.5%. While the germination of the spores of *P. digitatum* was inhibited to 100% at the dose of 1.5% and for a duration of contact of

25min. This study shows that the Perydoxan presents a significant efficiency on the growth mycelienne and germination of the spores of fungi *P. italicum* and *P. digitatum*.

**Keywords**— *Penicillium italicum* ; *P. digitatum* ; Perydoxan ; Antifungal activity.

### I. INTRODUCTION

Au Maroc, la culture des agrumes couvre une superficie de 76500 hectares assurant une production annuelle d'environ 1,5 millions de tonnes. Ce tonnage couvre à la fois les besoins du marché national en fruit frais, assure l'exportation d'environ 570.000 t/an et alimente les unités de transformation (Anonyme, 2011).

La région du Gharb est une zone essentiellement rurale à intense activité primeuriste. Son économie est basée sur plusieurs variétés d'agrumes qui sont exposés aux attaques de champignons phytopathogènes, notamment *Penicillium digitatum*. Pour prévenir et empêcher le développement de ce champignon, seuls les fongicides chimiques sont employés actuellement. Cependant, ces produits sont préjudiciables sur l'environnement et la santé par la persistance de résidus sur les fruits (Cabras et al., 1999), l'apparition de formes résistantes (Ben-yehoshua et al., 1994) et l'accumulation de fongicides dans le tissu adipeux humain (Suwalsky et al., 1999). Le consommateur exige de plus en plus des aliments exempts de produits chimiques. D'où la nécessité de trouver des méthodes alternatives. Dans ce contexte, les extraits de *Ceratoniasiliqua* pourraient contrôler *Penicillium digitatum* en post-récolte. Aussi l'effet antifongique de *C. siliqua* a été testé en utilisant plusieurs solvants d'extraction de différentes polarités.

En raison de leur teneur élevée en eau et de leur richesse en élément nutritifs, les fruits d'agrumes sont très susceptibles aux attaques des champignons pathogènes (Eckert et Ogawa, 1985). Cependant, la quasi-totalité des pertes d'origine parasitaire, en post-récolte, sont dues aux champignons suivants: *Geotrichum candidum* (agent de la pourriture amère), *Penicillium digitatum* (agent de la pourriture verte) et *P. italicum* (agent de la pourriture bleue). En effet, plus de 90% des dégâts sur fruits d'agrumes en post-récolte sont dus aux champignons précités (Boubaker, 1993).

Les maladies de post-récolte sont à l'origine d'énormes pertes des fruits d'agrumes pendant le stockage et le transport des fruits. Ces maladies sont contrôlées principalement par l'utilisation excessive de fongicides de synthèse. Cependant, l'efficacité variable de ces fongicides, la prolifération des souches résistantes et la préoccupation croissante de la population envers les dangers liés à l'utilisation de ces produits, tels que leurs effets néfastes sur la santé et l'environnement, a nécessité le développement de stratégies alternatives pour le contrôle des maladies d'agrumes en post-récolte.

Il est bien connu que les fruits, après leur récolte sont attaqués par des moisissures, qui entraînent leurs pourritures. Ces moisissures apparaissent après un temps plus ou moins long, selon la nature des fruits ou des légumes et les conditions de stockage (Gatto et al., 2011). Ces champignons sont pour la plupart bien connus, de même que leur mode de développement. Parmi ces champignons on a le *Penicillium digitatum* qui cause la pourriture verte des agrumes. Alors que *Penicillium italicum* qui cause de la pourriture bleue. Ces deux *Penicillium* sont responsables de plus de 80% des pourritures des agrumes en post-récolte (Attrassi et

Badoc, 2014 ; Attrassi et Rahouti, 2016). Les méthodes de traitement des fruits contre ces champignons sont connues et bien décrites. Parmi celles-ci, on cite l'application par trempage et/ou brossage des fruits après récolte dans des solutions de fongicides (Chitzanidis et Argyri, 1990; Cochen et Shalom, 1990 ; Attrassi et Badoc, 2014 ; Attrassi et Rahouti, 2016). D'autres procédés recommandent un premier traitement par pulvérisation de composés fongicides sur les arbres fruitiers, puis un trempage des fruits dans d'autres fongicides. Les fongicides les plus couramment utilisés pour le traitement des fruits après récolte et surtout les agrumes, sont l'imazalil, le thiabendazole ou la guazatine, qui se sont avérés jusqu'à présent d'une grande efficacité. Ces composés sont en effet particulièrement actifs contre les souches de *Penicillium*, qui sont à l'origine de nombreuses maladies fongiques (Eckert, 1991 ; Wedge et al., 2000). Malheureusement, actuellement on note l'apparition des souches de *Penicillium* résistantes au thiabendazole et plus récemment résistantes à l'imazalil. Cette spécialité peut être employée aussi bien en traitement préventif que curatif, il a été démontré que cet effet curatif reste limité dans le temps. En plus l'utilisation des pesticides est de plus en plus dénoncée en raison de leurs grandes toxicités (El-Gaouth et al., 1992 ; Conway et al., 1994 ; Deferera et al., 2000 ; Martinez-Romero et al., 2008). Pour cela, le développement de nouveaux produits de protection des fruits et légumes ayant pour principes actifs des molécules à faible toxicité peut s'inscrire comme une solution écologique contre la croissance mycélienne des champignons *P. italicum* et *P. Digitatum*. De plus le contrôle de la pourriture fongique est essentiel pour optimiser le potentiel de stockage des citruses.

L'objectif de ce travail est d'isoler et évaluer l'efficacité du Perydroxan dans le contrôle de la pourriture verte et bleue causée par *Penicillium digitatum* et *P. italicum* et d'étudier leur effet sur la croissance mycélienne et la germination des spores de deux champignons phytopathogènes.

## II. MATERIEL ET METHODES

*Penicillium italicum* et *P. digitatum*, ont été isolés à partir des fruits pourris en conservation de la variété d'agrumes provenant de chambre froide de Kénitra à 6°C après six mois de stockage en 2015:

- Clémentines d'un clémentinier

(*Citrus clementina* Hort. ex Tan.) orange foncé, petites et de texture onctueuse

Des fruits d'agrumes pourris en conservation provenant de chambre froide de Kénitra, ont été ramenés au laboratoire pour analyse mycologique. Elles sont désinfectées par l'alcool 90° et les fragments présentant des lésions ont été par la suite découpés et déposés sur le

milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar). Les constituants de ce milieu (pomme de terre : 200g ; agar-agar : 15g ; saccharose ; 20g ; eau distillée : 1000ml) sont mélangés au préalable dans une fiole d'Erlenmeyer d'un litre. Ensuite le milieu est stérilisé en autoclave à 120°C pendant 30 min. Quand il se refroidit et atteint une température d'environ 50°C, le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri à raison de 30 à 40 ml par boîte additionné de 100 mg/l de chloramphénicol. Toutes les boîtes ensemencées par les fragments sont incubées pendant 10 jours à température de 25°C et à l'obscurité.

Une fois les colonies fongiques développées sur le milieu PDA, plusieurs repiquages sont réalisées dans de nouvelles boîtes de PDA afin d'obtenir des cultures pures. Des isollements monospores ont été également réalisés à partir de cultures pures en utilisant la technique des stries perpendiculaires. Cette technique consiste à préparer une suspension sporale à partir de chaque culture et d'étaler à la surface du milieu de culture une goutte de la suspension en stries perpendiculaires. Les colonies développées après 24 heures sont prélevées une à une sous microscopes, à faible ou à moyen grossissement, et repiquées séparément dans d'autres boîtes contenant le milieu PDA.

La détermination des espèces fongique isolés a été réalisée par l'utilisation de plusieurs clés de détermination (Samson et al., 1984 ; Pitt, 1988 ; Botton et al., 1990 ).

#### **A-Efficacité in vitro du produit Perydroxan sur la croissance mycélienne**

Le produit testé est le perydroxan qui est un mélange d'acide péracétique et de peroxyde d'hydrogène. Il est conçu pour assainir les surfaces qui entrent en contact avec les produits alimentaires.

Etude de l'efficacité du produit Perydroxan sur la croissance mycélienne *in vitro* de *P. italicum* et de *P. digitatum* à des concentrations de 0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2,0 ; 2,5 et 3% (v: v) a été testé pour son effet inhibiteur de la croissance mycélienne de *P. italicum* et *P. digitatum*. Les différentes concentrations ont été versées dans des erlenmeyers contenant le milieu PDA stérilisé. Après agitation, le mélange est distribué dans des boîtes de pétri stériles (9 cm de diamètre). Les boîtes contenant le PDA exempt de produit chimique ont été utilisées comme témoin. Toutes les boîtes ont été inoculées au centre avec des disques de diamètre 5 mm d'une culture âgée de 10 jours par des champignons testés. Les boîtes de pétri inoculées ont été scellées avec du para film et ont été incubées à 25°C ± 2 °C (Al-Reza et al., 2010). La croissance linéaire moyenne des champignons testés a été calculée après 7 jours quand le témoin atteint la pleine croissance. Tous les traitements ont consisté en trois répétitions. L'efficacité de chaque traitement sur la

croissance des champignons a été calculée en déterminant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

#### **B-Etude de l'efficacité in vitro du produit Perydroxan sur la germination des spores**

L'effet du produit perydroxan aux concentrations antérieures sur la germination des spores de *P. italicum*, et *P. digitatum* a été évalué. Des suspensions de spores ont été préparées à partir des cultures vieilles de deux semaines cultivées sur PDA à 25°C. Les spores ont été récupérées en les enlevant à la surface des cultures avec une anse bactériologique stérile dans 5 ml d'eau distillée stérile et transférées dans 100 ml d'eau distillée stérile dans une fiole conique de 250 ml. Les suspensions ont été agitées pendant 10 min à 25°C et filtrées à travers deux couches de tissu mousseline stérile pour éliminer le mycélium fongique. La concentration des spores a été déterminée avec un hemacytometre et a été ajusté à 105 spores/ml. 1 ml de la suspension de spores de *P. italicum* ou du *P. digitatum* a été ajouté dans un tube contenant 9 ml des différentes concentrations du produit perydroxan (0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2,0 et 2,5 (v: v)). Puis chaque solution a été incubée à 25°C pendant 1 ; 5 ; 10 ; 15 et 25 min. Ensuite, 0,1 ml de la suspension de chaque période d'incubation et la concentration du produit ont été étalés sur les milieux PDA et incubées pendant 6 jours à 25°C selon la méthode de Piano et al., 1997. La survie du champignon a été exprimée par le nombre moyen d'unités formant des colonies UFC/ml. Les pourcentages d'inhibition de la germination des spores pour les deux champignons étudiés ont été calculés selon la formule suivante:

$$P\% = \frac{D - Da}{D} \times 100$$

Avec:

P%: Pourcentage d'inhibition (%) de la germination des spores

D: Estimation de la germination mycélienne dans milieu témoin.

Da: Estimation de la germination mycélienne dans le milieu avec le produit.

#### **C- Essais in vivo du Perydroxan sur le développement des pourritures des fruits d'agrumes**

Les fruits d'agrumes, préalablement désinfectés à l'alcool 90°, sont lavés à l'eau distillée stérile puis blessés à l'aide d'une aiguille fine et stérile (blessures de 2 mm de profondeur) en trois points opposés de la région équatoriale du fruit puis trempé dans un Becher contenant 1 l de la solution du Perydroxan à la dose la plus concentrée (1,5% et 2,5%). Après deux heures, les fruits d'agrumes ainsi blessés sont inoculés par les fragments mycéliens prélevés à partir d'une culture âgée de dix jours

sur le milieu PDA à l'aide d'une aiguille stérile. Les fruits traités sont répartis dans des sachets en plastique pulvérisés avec l'eau distillée stérile afin de maintenir une humidité relative élevée. Par la suite, les sachets sont placés dans des chambres froides pendant deux mois à 4 °C et dix jours à 25 °C à l'obscurité. Le développement des pourritures est évalué par mesure perpendiculaire des diamètres des lésions et le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule suivante :

$$I(\%) = \frac{Dt - Df}{Dt} \times 100$$

$D_t$  = diamètre de la pourriture du témoin

$D_f$  = diamètre de la pourriture du fruit inoculé et traité par le Perydroxan.

Pour chaque test, trois essais sont effectués et pour chaque essai, trois pommes sont inoculées.

#### Méthode d'analyse statistique

Les résultats ont été analysés statistiquement par l'analyse de la variance à un critère, chaque donnée représentait la

moyenne de trois répétitions. L'application du test de Newman et Keuls permet de déterminer les groupeshomogènes. Ainsi les données appartenant au même groupe sont considérées non différentes avec le risque  $\alpha$  égal à 5%. Le traitement statistique des résultats est réalisé à l'aide d'un programme informatique statistique.

### III. RESULTATS ET DISCUSSION

#### \*Croissance mycélienne Invitro de *P. italicum* et de *P. digitatum*

Les résultats obtenus sont présentés dans laFigure 1 et 2. Le produit Perydroxan est très efficace pour inhiber la croissance mycélienne des deux champignons *P. italicum* et de *P. digitatum*. Cette efficacité varie en fonction des doses testées. La dose de 2,5% à induit une réduction de la croissance mycélienne avec un pourcentage d'inhibition de 100% de la croissance mycélienne des deux champignons

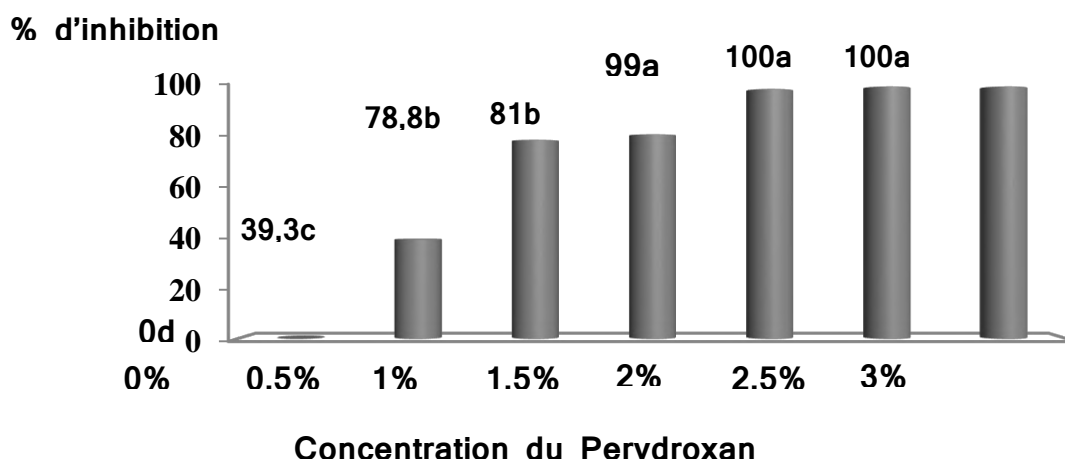


Fig.1: Croissance mycélienne de *P. italicum* après 7 jours d'incubation à 25°C des boîtes de pétri: témoin 0% et traitée avec 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5% et 3% de perydroxan.

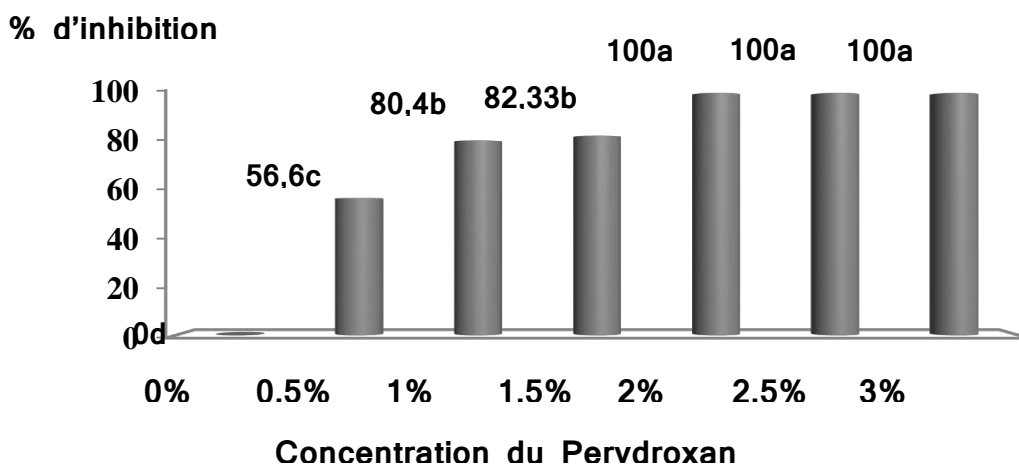


Fig.2: Croissance mycélienne de *P. digitatum* après 7 jours d'incubation à 25°C des boîtes de pétri: témoin 0% et traitée avec 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5% et 3% de perydroxan.

\* **Germination des spores de *P. italicum* et de *P. digitatum***

Toutes les concentrations du produit testé ont réduit la germination des spores des deux champignons étudiés (Tableaux 1 et 2). L'inhibition totale a été observée à la dose de 2,5% pour la durée de contact de 15 min du produit avec les spores des champignons testés. Les

résultats montrent aussi que les spores du champignon *P. digitatum* sont plus sensibles au produit que les spores de *P. italicum*. Les résultats obtenus lors de l'application de ce produit sont similaires à ceux obtenus par plusieurs chercheurs (Poovaiah, 1986 ; Juven et Pierson, 1996 ; Ralph, 2003 ; El-Mougy *et al.*, 2008) qui ont étudié l'activité antifongique du peroxyde d'hydrogène.

Tableau 1: Pourcentage d'inhibition (%) de la germination des spores *P. italicum* en réponse aux différentes concentrations du produit Perydroxan et après 1 ; 5 ; 10 ; 15 et 25 min de contact des spores avec le produit.

Temps de contact (min) Spores de <i>P. italicum</i>	Concentration du produit Perydroxan (%)					
	0%	0,50%	1%	1,50%	2%	2,50%
1	0,0a*	0,0e	0,0e	5,4d	25,4d	36,6d
5	0,0a	8,8d	29,9d	41,0c	52,1c	74,3c
10	0,0a	26,6c	64,3c	72,1b	72,1bc	96,6b
15	0,0a	52,1b	78,8b	81,0b	89,9b	100,0a
25	0,0a	74,3a	84,3a	98,8a	100,0a	100,0a

\* Les chiffres suivis de la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différents selon le test de Newman et Keuls ( $P \leq 5\%$ ).

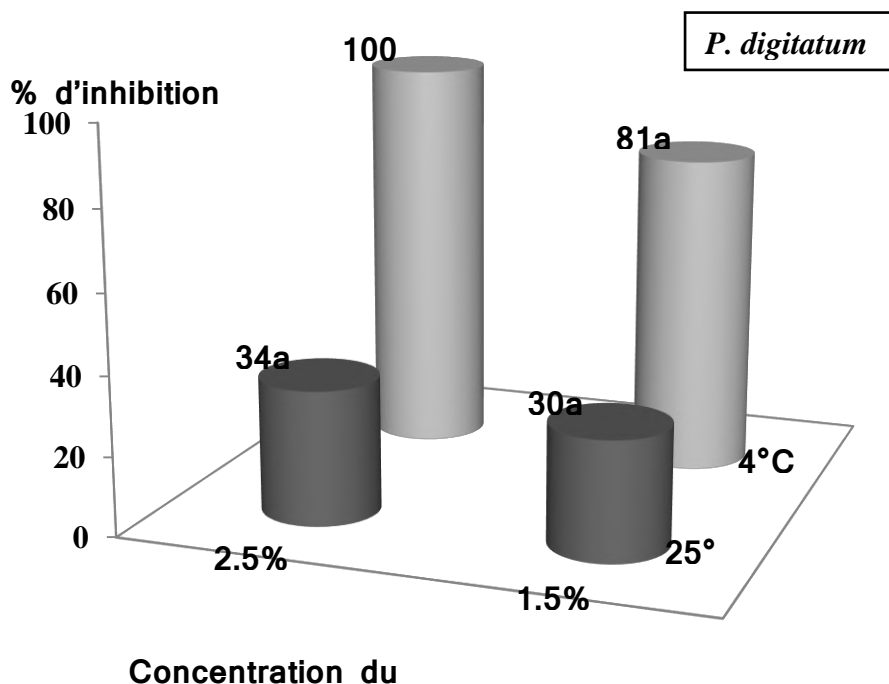
Tableau 2: Pourcentage d'inhibition (%) de la germination des spores *P. digitatum* en réponse aux différentes concentrations du produit Perydroxan et après 1 ; 5 ; 10 ; 15 et 25 min de contact des spores avec le produit.

Temps de contact (min) Spores de <i>P. digitatum</i>	Concentration du produit Perydroxan (%)					
	0%	0,50%	1%	1,50%	2%	2,50%
1	0,0a	3,22e*	21,00d	56,5c	81,00c	89,89c
5	0,0a	14,33d	31,00c	78,78bc	87,67bc	92,11b
10	0,0a	27,67c	51,00b	84,33b	89,89b	98,78a
15	0,0a	41,00b	72,11a	87,67b	98,78a	100,0a
25	0,0a	76,56a	89,89a	100,00a	100,0a	100,0a

\* Les chiffres suivis de la même lettre dans la même colonne ne sont pas significativement différents selon le test de Newman et Keuls ( $P \leq 5\%$ ).

\* **Effet in vivo du perydroxan sur le développement de la pourriture des fruits d'agrumes en conservation.**

Le perydroxan présente une efficacité importante à 4°C et moyenne à 25°C (Figure 3) vis-à-vis des champignons *P. digitatum* et *P. italicum*, en inhibant le développement de la pourriture sur les fruits d'agrumes inoculés.





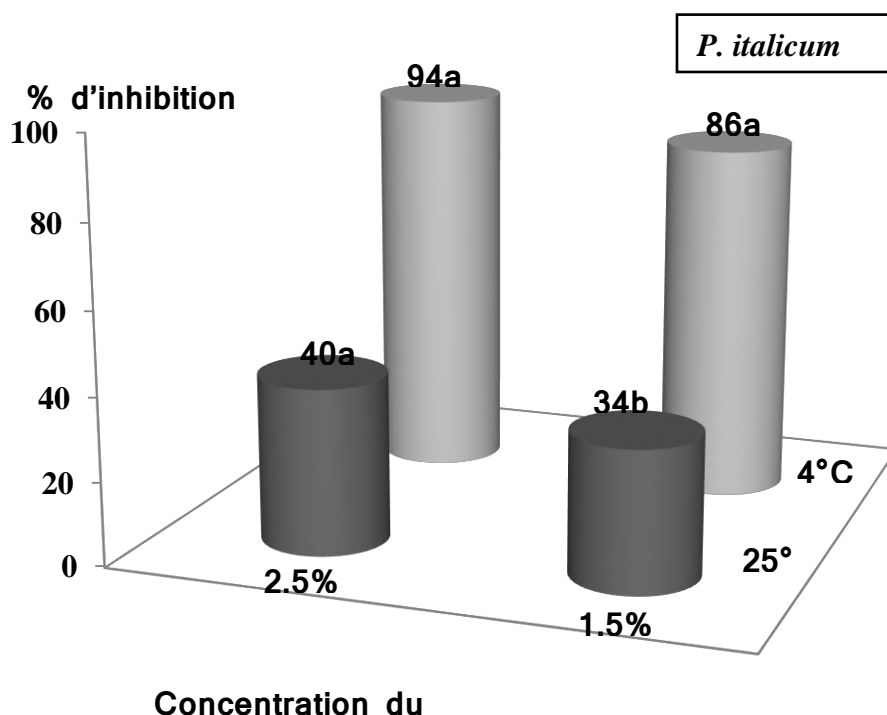


Fig.3: Effet du Perydroxan (1,5% et 2,5%) sur le développement de la pourriture des fruits d'agrumes inoculés par deux espèces fongiques et incubées à 4 et 25°C.

Récemment, plusieurs produits commerciaux à base de peroxyde d'hydrogène ont été testé pour leur effet antifongique, comme le produit Storox un nouveau désinfectant à large spectre contenant un mélange de peroxyde d'hydrogène et d'acide peroxyacétique, ce produit a réduit à 98% la contamination des caisses d'emballage en bois par *Penicillium expansum*, lorsqu'il est appliqué à 2700 ppm (Sholberg, 2004). Tian et al. (2002) ont démontré que le chlorure de calcium à 2% a inhibé la croissance mycélienne et la germination des spores de *R. stolonifer*, alors que Patykowski, 2006 a prouvé que 40 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inhibe la germination de spores *in vitro* de *B. cinerea*. Une étude récente a montré que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> possède une activité antibactérienne *in vitro* et sur les feuilles de tomate contre *R. solanacearum* (Lien et al., 1997). L'acide peracétique est actuellement utilisé avec succès pour désinfecter les effluents d'eaux usées et stériliser les récipients de traitement et des réservoirs dans l'industrie alimentaire (Profaizer et al., 1997).

#### IV. CONCLUSION

Le produit perydroxan présente un important effet inhibiteur de la croissance mycélienne et de la germination des spores des champignons: *P. italicum* et *P. digitum*. De part son important potentiel de désinfection, il permet l'éradication des champignons en question dans les stations de conditionnement, les structures des serres et ceci à partir de la dose de 2,5%. A cette dose le

Perydroxan est à recommander pour la désinfection des outils de travail comme les secteurs, les pinces et couteaux lors des opérations d'ébourgeonnage, des tailles, de greffage et d'effeuillage.

Les traitements post-récolte des fruits d'agrumes par trempage dans le perydroxan réduisent de façon significative leur pourriture. *In vitro* et *in vivo*, le perydroxan donne des résultats satisfaisants sur la croissance et la germination des deux espèces étudiées. La fongitoxicité de ce produit résulte de son interaction avec des groupements amines et hydroxyles des enzymes intervenant dans le processus de la respiration (Owens, 1963 ; Sijpesteijn, 1970 ; Leroux et Moncomble, 1993a ; Leroux et Moncomble, 1993b).

À l'issue de ce travail, on retiendra que dans le cas d'une conservation à 4°C, le perydroxan permet de stopper l'activité de la plupart des champignons responsables de la pourriture des fruits d'agrumes.

#### REFERENCES

- [1] Anonyme, 2011. Bilan Campagne agrumicole 2010/2011. Office Régional de Mise en Valeur Agricole du Souss-Massa, Service de production agricole.
- [2] Al-Reza S. M., Rahman A., Ahmed Y., Kang S.C., 2010. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **96** (2010) 86.

- [3] **Attrassi K. et Badoc A., 2014.** Moisissures des fruits de deux agrumes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **153**(1-4), 25-34.
- [4] **Attrassi K. et Rahouti M., 2016.** Effet de composés calciques inorganiques sur le développement *in vitro* de moisissures isolées d'agrumes après la récolte. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **85** : 253-275.
- [5] **Ben-Yehoshua S., Goldschmidt E.E., Bar-Joseph M., 1994-** Citrus fruits. - In Arntzen (C.), Ritter (E.M.) (Eds.) *Encyclopaedia of Agricultural Science*, Vol. 1: A-D. Academic Press, Inc., p. 357-378 (xix, 634 p).
- [6] **Boubaker H., 1993.** Etude des problèmes phytosanitaires des fruits d'agrumes en post-récolte, *Phytopathologie*. Univ. Cadi Ayyad, Marrakech, p. 117.
- [7] **Botton B., A. Burton, M. Fevre, S. Gauthier, P.R. Guy, J.P. Larpent, P. Reymond, J.J. Sanglier, Y. Vayssier et P. Veau, 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Édition Masson, 511 p.
- [8] **Cabras (P.), Schirras (M.), Pirisi (F.M.), Garau (V.L.), Angioni (A.), 1999.** - Factors affecting imazalil and thiabendazole uptake and persistence in Citrus fruits following dip treatments. - *J. Agric. Food Chem.*, **47**(8), 3352-3354.
- [9] **Chitzanidis A., Argyri I., 1990.** *Bulletin OEPP.*, 20 (1990) 163.
- [10] **Cohen E., Shalom Y., 1990.** *Phytoparasitica.*, **18** (1990) 17.
- [11] **Conway S.W., Sams C.E., Wang C.Y., Abbott J. A., 1994.** *J. Am. Soc. Hortic.Sci.*, 119 (1994) 49.
- [12] **Deferera D. J., Ziogas B. N., Polissiou M. G., 2000.** *J. Agric. Food Chem.*, **48** (2000) 2576.
- [13] **Eckert, J.W., Ogawa, J.M., 1985.** The chemical control of postharvest diseases : subtropical and tropical fruits. *Annual Review of Phytopathology* **23**, 421-454.
- [14] **Eckert J.W., 1991.** *Workshop proceedings USDA ARS-92*, **1** (1991) 14.
- [15] **El-Gaouth A., Arul J., Grenier J., Asselin A., 1992.** *Phytopathology*, **82** (1992) 398.
- [16] **El-Mougy N. S., El-Gamal N. G., Abdalla M. A., 2008.** *Journal of plant protection research.*, **3** (2008) 385.
- [17] **Gatto M. A., Ippolito A., Linsalata V., Cascarano N. A., Nigro F., Vanadia S., Venere D. D., 2011.** *Postharvest. Biol. Technol.*, **61** (2011) 72.
- [18] **Juven B. J., Pierson M. D., 1996.** *J. Food Prot.*, **59**(11) (1996) 1233.
- [19] **Leroux P., Moncomble D., 1993a-** *Lutte chimique contre la pourriture* grise de la vigne. Passé, présent, futur (1<sup>re</sup> partie). - *Phytoma*, 1993a, (450), 27-30.
- [20] **Leroux P., Moncomble D., 1993b-** *Lutte chimique contre la pourriture* grise de la vigne. Passé, présent, futur (2<sup>e</sup> partie). - *Phytoma*, 1993b, (451), 23-27.
- [21] **Lien J. D., Conway W. S., Whitaker B. D., Sams C. E., 1997.** *J. Am. Soc. Hortic.Sci.*, **122** (1997) 91.
- [22] **Martinez-Romero D., Serrano M., Bailen G., Guillen F., Zapata P. J., Valverde J. M., Castillo S., M. Fuetes Valero D., 2008.** *Postharvest Biol. Technol.*, **47** (2008) 54.
- [23] **Owens R.G., 1963-** *Chemistry and physiology of fungicidal action.* - *Annu. Rev. Phytopathol.*, **1**, 77-100.
- [24] **Patykowski J., 2006.** *Acta Physiologiae Plantarum.*, **28** (6) (2006) 589.
- [25] **Piano S., Neyrotti V., Migheli Q., Gullino M. L., 1997.** *Postharv. Biol. Technol.*, **11** (1997) 131.
- [26] **Pitt J.L., 1988.** *Laboratory guide to common Penicillium species.* Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation. Division of Food Processing. 187 p.
- [27] **Poovaiah B. W., 1986.** *Food Technol.*, **40** (1986) 86.
- [28] **Profaizer M., Massone A., Nurizzo C., Bandera F., 1997.** *Mededelingen – Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent*, **62** (1997) 1785.
- [29] **Ralph S., 2003.** *Controlled Environments Magazine*, **42** (2003) 328.
- [30] **Sholberg P.L., 2004.** *Washington tree fruit postharvest conference.* December 8th, (2004)
- [31] **Samson R.A., E.S. Hoekstra et C.A.N. Van Dorscht, 1984.** *Introduction to food-Borne fungi.* Second edition Central bureau Voor Schimmelcultures. Institute of the Royal Netherlands, Academy of Arts and Sciences, 248 p.
- [32] **Sijpesteijn (A.K.), 1970.** *Biochemical modes of action of agricultural fungicides.* - *World Rev. Pest. Contr.*, U.K., **9**(2), 85-93.
- [33] **Suwalsky M., Rodríguez C., Villena F., Aguilar F., Sotomayor C.P., 1999** - The pesticide hexachlorobenzene induces alterations in the human erythrocyte membrane. - *Pestic. Biochem. Physiol.*, 1999, **65**(3), 205-214.
- [34] **Tian S.P., Fan Q, Xu Y., Jiang A.L., 2002.** *Plant Pathology.*, **51** (2002) 352.
- [35] **Wedge D. E., Galindo J. C. G., Macias F. A., 2000.** *Phytochemistry.*, **53** (2000) 747.